Ein modifiziertes Scholander-Respirometer*

Von Wolfgang Waitzbauer und Friedrich Fehringer

(Vorgelegt in der Sitzung der mathem.-naturw. Klasse am 24. Juni 1982 durch das w. M. W. KÜHNELT)

Abstract

The construction of a Scholander respirometer for manual measurement is described. The instrument is used for O2-consumption measurements of various species of terrestrial Coleoptera and Gastropods during aestivation and hibernation. The respirometer is composed of perspex and possesses an attachable measuring unit which records the relative humidity and temperature in the respiration chamber with high sensivity.

Einleitung

Messungen des Sauerstoffverbrauches durch volumetrische Respirometer mit konstantem Druck, wie sie bereits von Winterstein (1912) und Dixon (1934) durchgeführt wurden, erfolgen üblicherweise nach dem Grundprinzip von Scholander (Scholander 1950, Scholander et al., 1952). Die Bauweise dieser Respirometertype wurde seither mehrfach variiert, wobei Ablesung der Meßwerte entweder durch manuelle Bedienung (Wennesland 1951, Wieser 1962, Nopp 1965, Davies 1966) oder durch automatische Registration mittels eines Ereignisschreibers erfolgt (Phillipson 1962, Smith 1962, Chase et al. 1968, Klekowski, Zajdel 1972, Kratochvil 1974, 1976).

Das Gerät, welches für die eigenen Messungen verwendet wird, unterscheidet sich durch die folgenden Konstruktionsdetails von ähnlich gebauten Respirometern (DAVIES 1966): 1. Die einfache aber funktionelle Abdichtung des Manometerblocks, des Meßmikrometers und der Ansatzgefäße, 2. eine aufsteckbare mikroklimatische Meßeinheit zur kontinuierlichen Registrierung der rel. Feuchte und der Temperatur in der Meßkammer.

Das Respirometer ist bei großer Meßgenauigkeit auf einfachste Handhabung ausgelegt: Die Steckverbindungen zwischen Manometerblock und Meß-bzw. Kompensationskammer gestatten den raschen Austausch der Versuchstiere; hinsichtlich Volumsgröße und -form stehen mehrere Gefäßtypen zur Verfügung und ermöglichen so nicht nur eine entsprechende Empfindlichkeitseinstellung, sondern auch eine vielfache Auswahl an Versuchstieren.

Mit Unterstützung des Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung, Projekt-Nummer 3798.

Adresse: Dr. W. Waitzbauer-Institut für Zoologie der Universität Wien, Althanstraße 14, A-1090 Wien

Konstruktion

Der Manometerblock und die Versuchsgefäße (Respirationskammer, Kompensationskammer) bestehen aus Plexiglas, die Dichtungsringe aus Neoprengummi und sämtliche Kleinmetallteile aus Messing. Bekanntlich können nach dem Scholander-Prinzip Volumsänderungen direkt abgelesen werden; der Druckausgleich zwischen dem Meßgefäß und der Kompensationskammer erfolgt beim vorliegenden Modell durch den Vortrieb einer Mikrometerspindel (MS), welcher in linearer Beziehung zum O2-Verbrauch steht. Bei einem Spindeldurchmesser von 8,0 mm ergibt der Vortrieb um 1 mm – das entspricht einer Umdrehung der Mikrometerschraube - eine Volumsänderung von 50,26 mm³. Der gesamte Spindelhub von 50 mm entspricht demnach einem Volumen von 2513 mm³. Die Mikrometerschraube, ein handelsübliches Fabrikat (PAV-Einbaumikrometer, Type 4661), gewährleistet so die genügend lange Dauer jeder Meßreihe, selbst unter Versuchsbedingungen mit gesteigerter Respirationsrate. Die Mikrometerspindel steckt mit ihrem unteren Ende in der Mikrometerbohrung (MIB) und wird dort durch einen teilweise versenkten O-Ring (7) und eine Klemmschraube (8) fixiert. Diese Art der Befestigung verhindert nicht nur sicher den Wassereintritt, sondern ermöglicht auch eine stabile Verbindung zwischen dem langen, schweren Mikrometer und dem Manometerblock.

Im Gegensatz zu den kapillaren Manometerbohrungen des Respirometers von Davies (1966) sind dieselben (MB) mit 2,5 mm Durchmesser relativ weit. Ein Überlaufen der Manometerflüssigkeit (MF) – mit Sudan III angefärbtes Petroleum – durch die Mikrometerbohrung in die Respirationskammer wird dadurch verhindert ohne aber die Meßgenauigkeit zu beeinträchtigen. Die Betriebssicherheit wird außerdem durch zwei Überlaufkammern (11) unterhalb des Verschlußblockes (10) an der Mündung der MB erhöht. Ein Spiegel an der Rückseite des Manometerblocks (9) erleichtert bei der Ablesung die Niveaustandsregulierung der MF nach der eingeritzten horizontalen Pegellinie.

Die Befestigung zwischen dem Respirationsgefäß (2), dem Kompensationsgefäß (3) und dem Manometerblock erfolgt durch einfache Steckverbindungen. Doppeldichtungen aus teilweise versenkten O-Ringen

Erläuterungen zu den Abkürzungen der Abbildung

A) Frontansicht; B) Seitenansicht; C) Querschnitt durch die Respirationskammer

^{1.} Mikrometer; 2. Respirationskammer; 3. Kompensationskammer; 4. Plastiknapf zur Aufnahme des CO2-Absorbens; 5. Rahmenhalterung für den Napf; 6. Dichtungsringe zwischen Manometerblock und Respirations-bzw. Kompensationskammer; 7. Dichtungsring zwischen Manometerblock und Mikrometerspindel; 8. Klemmschraube zur Fixierung des Mikrometers und der Mikrometerspindel MS mit ausgefrästem Distanzschlitz in der Mikrometerbohrung MIB; 9. Spiegel und horizontale Markierung zur Regulierung des Pegelstandes der Manometerflüssigkeit MF; 10. Verschlußblock für Manometerbohrungen MB und Kompensationskammerbohrung KB mit Verschlußschraube und Dichtungsringen; 11. Überlaufkammern; 12. aufsteckbarer Meßfühler für rel. Feuchte und Temperatur in der Respirationskammer.

Ein modifiziertes Scholander-Respirometer

garantieren einen festen, wasserdichten Sitz der Gefäße. Im Oberteil der Respirationskammer befindet sich ein etwas in die Gefäßwand eingelassener Drahtrahmen (5), welcher als Halterung für den Plastiknapf (4) dient, der das Absorbens für das ausgeatmete CO2 enthält. Der Napf ist an einem Drahtbügel aus der Meßkammer entnehmbar. Als Absorptionsmittel dient eine auf Filterpapier aufgebrachte 10 % KOH-Lösung bzw. KOH in fester Form.

Am unteren Teil der Respirationskammer setzt seitlich ein kurzes Plexiglasrohr an, in welches ein kombinierter Hygro-Thermofühler (12) eingeschoben werden kann. Auch hier erfolgt die Abdichtung und Befestigung der Meßeinheit durch zwei halb versenkte O-Ringe. Der Fühler ist vom Innenraum der Respirationskammer durch eine feinmaschige Gitterwand aus Stahldraht getrennt. Der Hygrofühler (Rotronic, Meßelement DMS 100 für Standardfühler Lf und Lg) arbeitet mit einer Empfindlichkeit von $\pm 2\,\%$ rel. Feuchte, der Thermofühler (Rotronic, Pt-100) hat eine Meßgenauigkeit von $\pm 0,2^{\circ}$ C. Die Werte werden über einen Vorverstärker und einen Meßumformer (Rotronic, Hygroskop HTS) verzögerungsfrei durch einen Potentiometerschreiber (z. B. Goerz, Servogor 743) registriert. Auf diese Weise ist auch eine langfristige Kontrolle des Mikroklimas in der Meßkammer möglich.

Eine derartige Notwendigkeit besteht etwa bei der Messung des O2-Verbrauches während der Ästivation oder Hibernation verschiedener Wirbelloser, wie pulmonater Landschnecken (Helicidae, Enidae) und Coleopteren (Carabidae, Staphylinidae, Tenebrionidae). Vorversuche haben gezeigt, daß die Literaturangaben über konstante Feuchtebedingungen in der Respirationskammer während längerer Meßdauer (DAVIES 1966, Kratochvil 1976) keinesfalls den Tatsachen entsprechen, vielmehr unterliegt die rel. Feuchte bei Wasserbadtemperaturen über + 13°C deutlichen Schwankungen und steigt generell während mehrtägiger Versuchsdauer auf höhere Werte an. Die Gründe hierfür liegen wohl im komplexen Zusammenwirken verschiedener temperaturgesteuerter Faktoren, wie etwa der Transpirationsrate der Versuchstiere und dem so veränderten Sättigungsdruck oder der chemischen Umsetzung von KOH in Carbonat infolge der CO2-Absorption. Die Schnelligkeit und das Ausmaß der Feuchtigkeitsverhältnisse in der Versuchskammer scheint allerdings sowohl artlich wie auch vom Ausmaß des Aktivitätszustandes stark abhängig zu sein und ist bei Gastropoden und Coleopteren sehr unterschiedlich: bei trockenschlafenden Schnecken erfolgen die Veränderungen der Luftfeuchte - entsprechend den periodischen Ventilationsphasen - (NOPP, 1965) stufenweise, bei Käfern aus Trockengebieten mit sommerlicher Ruhepause steigt die relative Feuchte kontinuierlich an. Wieweit selbst inaktive Landevertebraten - insbesondere Insekten - ein Regulationsvermögen ihres Ruhestoffwechsels besitzen, ist ja noch völlig unbekannt, doch könnte die vorgestellte Meßapparatur erste Ansatzpunkte zur Bearbeitung dieser stoffwechselphysiologisch wichtigen Frage liefern. Eingehende Untersuchungen zu dieser bisher unbeachteten Problematik bei Respirationsmessungen sollen Inhalt einer späteren Veröffentlichung sein.

Maßangaben des Respirometers

Materialstärke: Manometerblock, Verschlußblock: 20 mm.

Wandstärke: Respirationskammer, Kompensationskammer: wahl-

weise 1,5 oder 3 mm, je nach Gefäßform.

Bohrungen (Durchmesser):

Manometerbohrung: 2,5 mm Mikrometerbohrung: 9,0 mm

Kompensationskammerbohrung: 4 mm

O-Ringe:

in der Mikrometerbohrung: 8 × 2 mm

im Verschlußblock: 13 × 2 mm

Ansatzstück für Respirometer- bzw. Kompensationskammer

und den Klimafühler: 14 × 2,5 mm

Literatur

- Chase, A. M., Unwin, D. M., Brown, R. H., J.: A simple electrolytic respirometer for the continous recording of oxygen consumption under constant and natural conditions. J. exp. Biol. 48 (1968), 207–215.
- Davies, P. Sp.: A constant pressure respirometer for medium sized animals. Oikos 17 (1966), 108-112.
- DIXON, M.: Manometric methods. London: Cambridge University Press (1934).
- KLEKOWSKI, R. Z., ZAJDEL, J. W.: Capacity electrolytic respirometer KZ-CER-01T with reviews and discussion of electrolytic respirometry. Pol. Arch. Hydrobiol. 19 (1972), 475-504.
- Kratochvil, H.: Ein selbständig registrierendes Respirometer. Sber. österr. Akad. Wiss., Mathem.-naturw. Kl., Abt. I, 182 (1974), 259–263.
- Kratochvil, H.: Langfristige Messungen des Sauerstoffverbrauches und der Herzschlagrate an trockenschlafenden Landpulmonaten. Zool. Anz. (Jena, 1976) 196, 289–317.
- Nopp, H.: Temperaturbezogene Regulation des Sauerstoffverbrauches und der Herzschlagrate bei einigen Landpulmonaten. Z. vergl. Physiol. 50 (1965), 641–659.
- PHILLIPSON, J.: Respirometry and study of energy turnover in natural systems with particular reference to harvest spiders (Phalangiida). Oikos 13 (1962), 311-322.
- Scholander, P. F.: Volumetric plastic respirometer. Rev. Sci. Instrum. 21 (1950), 378-380.
- Scholander, P. F., Claff, C. L., Andrews, J. R., Wallach, D. F.: Microvolumetric respirometry. Methods for measuring O2-consumption and CO2-production by cells and enzymic reactions. J. gen. Physiol. 35 (1952), 375-395.

- SMITH, H. W.: An electrolytic respirometer with microlite sensivity. Lab. Pract. 11 (1962), 741-746.
- Wennesland, R.: A volumetric microrespirometer for studies of tissue metabolism. Science 114 (1951), 100–102.
- WIESER, W.: Parameter des Sauerstoffverbrauchs I. Der Sauerstoffverbrauch einiger Landisopoden. Z. vergl. Physiol. 45 (1962), 247–271.
- WINTERSTEIN, H.: Ein Apparat zur Mikroblutgasanalyse und Mikrorespirometrie. Biochem. Z. 46 (1912), 440-449.